Aus dem Hygienischen Institut der Universität Breslau.
Direktor: Professor Dr. C. Prausnitz.

Untersuchungen über die Herstellung spezifisch-präzipitierender Immunsera, mit besonderer Berücksichtigung der Entfernung von heterologen und Verwandtschaftspräzipitinen

Inaugural-Dissertation

zur
Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
der hohen Medizinischen Fakultät der Schlesischen
Friedrich-Wilhelms-Universität zu Breslau
vorgelegt von

Dorothea Hallmann
approbierte Zahnärztin

1933

Spezialdruckerei für Dissertationen Dr. Hermann Eschenhagen, KG., Ohlau i. Schl.

Gedruckt
mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Universität Breslau.

Referent: Professor Dr. Prausnitz.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

MEINER LIEBEN SCHWESTER
ELISABETH IN DANKBARKEIT

Einleitung.

Im Jahre 1897 beobachtet Rudolf Kraus als erster die Präzipitation. Er fand spezifische Niederschläge, wenn er Typhus-, Cholera- und Pestimmunsera mit den Filtraten der zugehörigen Bakterienkulturen zusammenbrachte. Zwei Jahre später fand Tchistovitch die Präzipitation auch bei tierischen Eiweißkörpern. Er behandelte Kaninchen mit Aalserum und sah, als er verdünntes Aalserum mit dem Serum dieser Kaninchen zusammenbrachte, daß das Gemisch schon nach kurzen Augenblicken opaleszent und später trübe wurde, und daß schließlich kleine Flöckchen auftraten, die sich am Boden des Röhrchens absetzten. Ohne von diesen Versuchen zu wissen, machte Uhlenhuth im Jahre 1900 die gleiche Beobachtung mit Hühnerserum. Er kam zu dem Versuch durch seine Arbeit über die biologische Differenzierung verschiedener Eieralbumine, als er prüfen wollte, ob die Eiweißstoffe des Hühnereis identisch seien mit denen des Hühnerblutes. Diese Beobachtung veranlaßte ihn zu weiteren Untersuchungen, ob es nicht möglich sei, mit Hilfe dieser Reaktion Menschenblut von anderen Blutarten zu unterscheiden. Nach einigen Vorversuchen mit Rinderblut behandelte er Kaninchen mit Menschenblut. Da es sich herausstellte, daß es sich um eine spezifische Reaktion handelte, die auch noch bei lange angetrocknetem und sogar bei fauligem Blut noch möglich sei, arbeitete Uhlenhuth mit ihrer Hilfe eine Methode für den forensischen Blutnachweis aus. Er probierte diese Methode an einer ganzen Reihe Corpora delicta aus, die ihm zur Verfügung gestellt wurden. Die Herkunft des Blutes war bei diesen Gegenständen längst erwiesen, ihm selbst aber unbekannt. Unabhängig von Uhlenhuth wurden im Jahre 1901 ähnliche Ergebnisse berichtet von Myers, Wassermann und Schütze, Stern, Mertens. Schon in den ersten Versuchen von Uhlenhuth sowie von Wassermann und Schütze zeigte es sich jedoch, daß

die Spezifität der Reaktion bei verwandten Tierarten versagte. So reagiert Antimenschenserum auch mit Affenserum, Antirinderserum mit Hammelserum, Antipferdeserum mit Eselserum usw. Für die Zoologie ist diese Tatsache von außerordentlicher Wichtigkeit, ist es doch damit möglich, aufs genaueste die verwandtschaftlichen Beziehungen im ganzen Tierreich zu studieren. In großzügiger Weise hat dies Nuttall getan, der an 900 verschiedenen Blutarten mit 30 verschiedenen Antisera Versuche anstellte. Leider zeigte es sich bald, daß manche Antisera auch Reaktionen mit den Sera nicht verwandter Tierarten (heterologe Reaktionen) geben und so für die Praxis des forensischen Blutnachweises unbrauchbar werden. Schon im Jahre 1902, also kurz nach der Entdeckung durch Uhlenhuth berichten Kister und Wolff und Strube von unspezifischen Antisera. Auf diese Fehlerquelle haben auch Uhlenhuth und Weidanz hingewiesen; sie haben die Notwendigkeit betont, jedes für forensische Zwecke bestimmte Serum auf heterologe Präzipitine sorgsam zu prüfen und alle solche „übergreifende Sera" auszuschalten. Dies bedingt jedoch große Verluste an Tiermaterial und Arbeit. Daher hat es nicht an Versuchen gefehlt, diesen Schaden zu vermeiden. Auf zwei Wegen hat man dieses Ziel zu verwirklichen gesucht: 1) Die Methode der Immunisierung so zu gestalten, daß möglichst wenig übergreifende Sera entstehen. 2) Aus den übergreifenden Sera nachträglich die heterologen Präzipitine zu entfernen, ohne den Titer der homologen Präzipitine zu beeinträchtigen.

So gibt G. Meissner an, daß junge Tiere häufiger unspezifische Antisera liefern als ausgewachsene, und daß die Zahl der übergreifenden Sera im Winter und Vorfrühling höher sei als im Sommer. Das Geschlecht spielt jedoch nach ihren Versuchen keine Rolle. Auch Manteufel und Beger konnten den gleichen Einfluß des Alters und der Jahreszeit auf die Bildung unspezifischer Antisera feststellen. Blumenthal allerdings fand bei seiner Immunisierungstechnik (siehe S. 7) keinen Einfluß von Alter und Jahreszeit; dagegen bestätigte er die Angabe, daß das Geschlecht keine Bedeutung für die vorliegende Frage hat.

Was die Immunisierungstechnik anlangt, so soll die Immunisierung nach Manteufel und Beger möglichst

rasch und ohne Unterbrechung erfolgen, am besten durch nur drei Injektionen am 1., 4. und 7. Tage. Mit zunehmender Immunisierungsdauer nimmt die Spezifität der Antisera ab. Gaehtgens konnte dies freilich bei seinen Untersuchungen nicht bestätigen. Blumenthal will dadurch günstige Ergebnisse in Bezug auf die Spezifität erhalten haben, daß er die Tiere an drei aufeinanderfolgenden Tagen mit 1,2 bezw. 3 ccm Serum intravenös spritzte und nach einer Pause von 21 Tagen nochmals 5 ccm intraperitonneal injizierte. Aber einen ganz neuen Weg beschreitet Koichi Sato, der das Antigen überhaupt nicht mehr injiziert, sondern in Form einer Lanolin-Salbe perkutan verreibt.

Besonders zahlreich waren die Versuche, die sich mit dem Antigen befassen. Manteufel und Beger berichten, daß bei Einspritzung ganz frischer Sera unspezifische Präzipitine seltener vorkommen. Fujiwara benutzte als Antigen kochkoaguliertes Serumeiweiß und will auf diese Weise spezifische Antisera herstellen können. Das Auftreten von Verwandtschaftspräzipitinen konnte jedoch mit dieser Methode nicht verhindert werden. Meißner und Beger bestätigen diese Befunde. Blumenthal findet aber das Verfahren Fujiwaras wenig geeignet, hochwertige Antisera zu erzielen. Tsukasaki stellte sich zur Immunisierung Alkoholfällungen aus Leichenblut her und will damit günstige Ergebnisse erhalten haben. Aehnliche Versuche führten Manteufel und Tomioka aus, die nach der Technik Tsukasakis hergestellte Alkoholfällungen aus wässrigen Fleischauszügen als Antigen verwendeten. Sie immunisierten zum Vergleich auch eine Anzahl von Tieren nach dem von Fujiwara angegebenen Verfahren mit kochkoaguliertem Eiweiß. Sie fanden, daß die Alkoholniederschläge häufig hochwertigere Immunsera lieferten als die Kochkoagula, und daß die so erzeugten Antisera auch bezüglich der Spezifität jenen nicht nachstanden. Ihre Ergebnisse in der Frage der Verwandtschaftspräzipitine waren jedoch nicht gleichsinnig. Rosenberg erhielt günstige Ergebnisse inbezug auf Spezifität bei Immunisierung mit Serum, das nach dem Verfahren von W. A. Schmidt durch Erhitzen koaguliert und durch nachträgliche Alkalisierung wieder gelöst wurde. W. A. Schmidt gibt die Herstellung seines Antigens folgendermaßen an: „60 ccm Serum werden mit dem gleichen Volum

physiologischer NaCl-Lösung verdünnt und eine halbe Stunde im Wasserbade bei 70° erhitzt. Infolge der Verdünnung tritt keine Ausscheidung von koaguliertem Eiweiß ein. Jetzt werden 10 ccm Normal-Natronlauge hinzugefügt, worauf bei gleicher Temperatur 15—20 Minuten lang weiter erhitzt wird. Durch die Natronlauge wird die etwas dickflüssige, graue Masse wieder dünnflüssig und klarer". Das Verfahren ist nach Manteufel dem Fujiwara'schen noch überlegen. Scimone und Torii stellten Versuche mit entätherten Antigenen an. Angeregt dazu wurden sie durch die Untersuchungen von Friedberger und Lasnitzki, die festgestellt hatten, daß bei der Präzipitation mit heterologen Antigenen ätherlösliche, also lipoidartige Komponenten des Antiserums und des Antigens in die Präzipitatbildung eingehen. Scimone und Torii erhielten auch tatsächlich mit entätherten Antigenen häufiger spezifische Antisera als mit nativen Antigenen, aber auch ihnen gelang es nicht immer, die Bildung übergreifender Präzipitine zu verhindern. Im völligen Gegensatz hierzu steht Gaehtgens, der auf Grund seiner Versuche zu der Ueberzeugung kam, daß lipoidartige Stoffe die spezifische Präzipitation deutlich verstärken und beschleunigen, und daß Lipoide die Antigenwirkung der Eiweißkörper im tierischen Organismus ebenfalls unterstützen. Er behandelte Kaninchen mit Gemischen aus Eiweißstoffen und teils homologen, teils heterologen Lipoiden und erlangte in 94 Prozent der Fälle hochwertige Antisera mit dem Titer 1 : 20 000. Bei der Prüfung der Artspezifität stellte es sich heraus, daß nur diejenigen Antisera, die durch Injektion von Serum + heterologen Lipoiden gewonnen waren, nicht stärker übergriffen, während homologe Lipoide das Uebergreifen sogar zu begünstigen schienen. Die Methode der Immunisierung mit Serum + heterologen Lipoiden lieferte ihm aber auch nur in 50 Prozent der Fälle spezifische Antisera. Deshalb versuchte Gaehtgens die Immunisierung mit entäthertem Serum + heterologen Lipoiden. Er ging dabei von dem Gedanken aus, daß in den ersten Versuchen die Wirkung der heterologen Lipoide durch die im Serum vorhandenen homologen Lipoide gehemmt worden sei. Doch auch mit dieser Methode konnte er das Auftreten übergreifender Präzipitine nicht immer verhindern. Noch bessere Ergebnisse erzielte er, wenn er zu Immunisierung die Nieder-

schläge, wie sie bei der spezifischen Präzipitation entstehen, teils allein, teils in Verbindung mit Lipoiden benutzte. Auch mit einem von seinen Lipoiden befreiten Trockenserum in Verbindung mit heterologen Lipoiden als Antigen erhielt er gute Ergebnisse. Hier muß nochmals auf die Versuche Koichi Sato's hingewiesen werden, der nicht nur die Immunisierungstechnik änderte, wie es oben erwähnt wurde, sondern auch das Antigen. Nachdem er in einer Versuchsreihe Kaninchen ein Lanolin-Serum-Gemisch perkutan eingerieben hatte, verwendete er in den meisten Versuchen eine Lanolinsalbe mit Hämoglobin (gewaschene Blutkörperchen). Die Technik seiner Versuche gestaltete sich folgendermaßen: Nachdem er defibriniertes Blut durch Zentrifugieren und mehrfaches Waschen mit NaCl-Lösung von dem Serum befreit hatte, mischte er es mit der gleichen Menge wasserfreien Lanolins. Hiervon rieb er jedem Kaninchen täglich während sechs Tagen je 20 g ein. Am 14. Tage prüfte er das Serum. Bei den so gewonnenen Antisera stellte er eine ausgezeichnete und strenge Spezifität bei guter Titerhöhe (1 : 20 000) ausnahmslos fest.

Allen bisher angeführten Arbeiten gemeinsam ist der Versuch, das Entstehen unspezifischer Präzipitine zu verhindern. Ihnen gegenüber steht eine Reihe von Versuchen, deren Ziel es ist, aus übergreifenden Antisera die unspezifischen Präzipitine zu entfernen. Bereits im Jahre 1902 unternahmen Kister und Weichardt solche Absättigungsversuche. Sie setzten einem auf Menscheneiweiß übergreifenden Antipferdeserum mehrmals Menschenblut zu und zentrifugierten den entstehenden Niederschlag ab. Auf diese Weise gelang es ihnen, das unspezifische Präzipitin zu entfernen, ohne das homologe zu schwächen. Weichardt teilt sogar mit, daß es ihm mit dieser Methode gelungen sei, Verwandtschaftsreaktionen zwischen Mensch und Affe zu beseitigen, und in einem Falle glaubt er sogar individuelle Unterschiede zwischen zwei verschiedenen Menschensera nachgewiesen zu haben. Dies Ergebnis ist bisher anscheinend nicht bestätigt worden. Besonders eingehend haben sich später Friedberger und seine Mitarbeiter G. Meissner und Jarre mit Absättigungsversuchen beschäftigt. Durch Ausfällung mit Blutkörperchen oder Organzellen der Tierart, auf welche das Serum übergriff, gelang es Friedberger und Jarre

teilweise die übergreifenden Präzipitine zu entfernen. Bessere Resultate erzielten Friedberger und Meissner bei Absättigung mit ungewaschenen Blutkörperchen, wobei es ihnen gelang, die heterologen Präzipitine zu entfernen, während die homologen erhalten blieben. Homologe ungewaschene Erythrozyten dagegen entfernten sowohl die homologen wie die heterologen Präzipitine. Benutzten sie jedoch gekochtes Serum zur Ausfällung, so wurden stets nur die heterologen Präzipitine entfernt, gleichgültig ob es sich um homologes oder heterologes Serum handelte. Diese Resultate wurden von Manteufel und Beger nicht bestätigt, wohl aber später von Ilchun Yu. Die Ergebnisse seiner Absättigungsversuche gehen dahin, daß er schon durch einen einmaligen Kontakt mit heterologem Antigen aus einem übergreifenden Antiserum alle heterologen Präzipitine entfernen konnte, während die homologen zum größten Teil erhalten blieben. Bei mehrmaligem Kontakt ging jedoch auch der homologe Titer stark zurück. Fürth gelang es, ein Antirinderserum, das etwa gleichstark auch auf Ziegen- und Hammelserum übergriff, durch Behandlung mit der gleichen Menge nativen Ziegenserums spezifisch zu machen. Durch Behandlung des Antiserums mit Rinderserum gingen jedoch alle Präzipitine verloren Bei einem Antihammelserum, das sehr stark Ziegenserum präzipitierte, gelang ihm die Differenzierung aber nicht. Durch Behandlung des Antiserums sowohl mit Hammel- als auch mit Ziegenserum verlor es vollständig seine präzipitierende Fähigkeit. Der Nachteil dieses Vorgehens besteht aber offenbar darin, daß das betreffende Antiserum durch Zusatz des fremden Antigens verdünnt und gewissermaßen verunreinigt wird. Absättigungsversuche ganz anderer Art führte Nishegorodzeff aus. Er bezeichnet seine Methode als „Absättigung in vivo". Durch intravenöse Injektion von einem bis zwei ccm des heterologen Antigens konnte er die Nebenpräzipitine beseitigen. Eine Blutentnahme 10 Minuten nach der Injektion zeigte, daß das zuvor übergreifende Antiserum nunmehr spezifisch reagierte. Auf diese Weise entfernte er aus einem Antirinderserum die Verwandtschaftspräzipitine für Schaf und Ziege. Die Absättigung gelang ihm jedoch nicht bei den Verwandtschaftsreaktionen zwischen Mensch und Affe bezw. zwischen Pferd

und Esel. Hier verschwanden zugleich mit den Verwandtschaftspräzipitinen auch die homologen Präzipitine.

Eigene Versuche.

1. Entfernung der heterologen und Verwandtschaftspräzipitine durch Absorption mit koagulierten Antigenen.

Auch meine Arbeit beschäftigt sich in ihrem ersten Teil mit der Aufgabe, aus Antisera Neben- und Verwandtschaftspräzipitine zu entfernen. Aus den oben angeführten Gründen ist aber das native Antigenserum für diesen Zweck ungeeignet. Daher verwendete ich hierfür das Antigen in koaguliertem Zustand. Ein solcher Zustand des Antigens ist gegeben in einer Koagulation des Serums, die man entweder durch Alkoholzusatz oder durch Kochen erhalten kann. Mit beiden Arten wurden Versuche angestellt, doch lieferten die Alkoholpräzipitate günstigere Ergebnisse. Daher soll nachstehend nur über diese berichtet werden.

Technik der Tierbehandlung.

Die Technik der Tierbehandlung gestaltete sich folgendermaßen. Zunächst bekamen die Kaninchen 2,3 bezw. 4 ccm Serum in Abständen von 4 Tagen injiziert. Die beiden ersten Einspritzungen wurden intravenös, die dritte intraperitonneal gegeben. Acht Tage nach der letzten Injektion wurde an einer Blutprobe das Serum auf seine präzipitierenden Fähigkeiten geprüft. Der Titer wurde nach der Uhlenhut'schen Ringprobe an den Antiserumverdünnungen 1 : 10, 1 : 100, 1 : 1 000, 1 : 10 000, 1 : 20 000 bestimmt. Im Interesse der Einfachheit wurde von einer Feststellung der wirksamen Endverdünnung abgesehen, da die verwendeten Verdünnungen die in der Laboratoriumspraxis gebräuchlichen sind, und die Frage der Entfernbarkeit übergreifender Präzipitine für praktische Zwecke entschieden werden sollte. Zeigte das Antiserum ein genügend starkes Uebergreifen, so wurde das Tier in tiefer Chloroformnarkose durch Durchschneidung der Halsschlagader entblutet, nachdem es zuvor 24 Stunden lang ge-

hungert hatte, um das Auftreten einer Serumopaleszenz zu verhindern*).

In den meisten Fällen hatte das Antiserum nach den ersten drei Injektionen zwar einen genügend starken homologen Titer von 20 000, ließ aber stärkeres Uebergreifen vermissen. Da aber gerade dies erreicht werden sollte, wurden die intraperitonealen Injektionen in Abständen von 4 Tagen fortgesetzt.

Mit den Tierversuchen wurde Anfang Februar 1933 begonnen. Als Antigene dienten Rinder-, Hammel-, Pferde-, Schweine-, Menschen-, Tauben-, Hühner- und Entenserum. Da es sehr lange dauerte, ehe das erste brauchbar übergreifende Antiserum erzielt wurde, wurden außerdem noch zwei Tiere gegen ein Antigengemisch gleicher Teile von Pferde-, Rinder- und Schweineserum immunisiert. Im ganzen wurden 42 Kaninchen behandelt, von denen allerdings 16 meist interkurrent (im anaphylaktischen Schock oder an Stallseuchen) zu Grunde gingen. Im allgemeinen wurde das Serum gut vertragen. Nur Hühnerserum machte eine Ausnahme. Es starben zwei Tiere nach der dritten, zwei Tiere bereits nach der ersten Injektion von Hühnerserum. Sofort nach der Injektion zeigten die beiden erstgenannten Tiere eine gewisse Kurzatmigkeit, die jedoch bald verging. Den Tag über, (die Injektionen wurden früh gemacht), waren die Tiere durchaus munter und freßlustig. Am andern Morgen, bezw. erst am zweiten Tag nach der Injektion, lagen sie tot im Stall. Das verwendete Serum war einwandfrei steril. Es gelang sehr schlecht, stark übergreifende Antisera zu erzielen. Von 24 Tieren lieferten nur drei unspezifisch reagierende Antisera mit Ausnahme von denen, die die Verwandtschaftsreaktionen zwischen Rind und Hammel, zwischen Pferd und Esel, oder zwischen Taube, Huhn und Ente gaben. Zwei dieser heterologen Antisera konnten erst nach acht Injektionen zum Uebergreifen gebracht werden, während sie nach drei Injektionen noch absolut spezifisch reagierten. Dies entspricht den Befunden von Manteufel und Beger, daß durch rasche Immunisierung, am besten durch nur drei Injektionen, spezifische Antisera zu erzielen sind, während mit zunehmender

*) Nach Uhlenhuth und Weidanz hängt die Opaleszenz eines Serums wahrscheinlich mit dem Verdauungsstadium zusammen. Sie kann starke Trübungen verursachen und so Anlaß zu Irrtümern geben.

Immunisierungsdauer die Spezifität abnimmt. Jedoch führten auch wiederholte Injektionen durchaus nicht immer zum Ziel. So gab z. B. das Menschenserum-Kaninchen M 925 auch nach 11 Injektionen noch nicht die geringste Spur einer unspezifischen Reaktion, während das Rinderserum-Kaninchen R 69 schon nach 4 Injektionen außerordentlich stark übergriff. Anscheinend spielt doch die Individualität der Tiere eine große Rolle. M 925 war ein altes, ausgewachsenes Tier, R 69 noch ganz jung. Dies entspricht der Feststellung G. Meissner's, daß junge Tiere leichter übergreifende Antisera liefern als alte.

Technik der Herstellung des Alkoholkoagulates.

Das zur Absättigung benutzte Alkoholkoagulat wurde so hergestellt, daß eine bestimmte Serummenge mit der zehnfachen Menge 96 prozentigen Alkohols unter Umrühren gemischt und der Niederschlag abfiltriert wurde. Anfangs wurde der Rückstand bei einer Temperatur von 60° getrocknet. Es gelang zwar auch mit diesem Koagulat eine gewisse Absättigung zu erzielen, doch waren die Ergebnisse nicht befriedigend. Da zur Tocknung mehrere Stunden benötigt wurden, so ist anzunehmen, daß das Koagulat doch durch die relativ geringe Temperatur in seiner spezifischen Bindungsfähigkeit geschädigt wurde; denn die Ergebnisse wurden um vieles besser, als der Rückstand an der Luft getrocknet wurde. Um noch schonender vorzugehen, wurde die Trocknung schließlich im Vacuum über konzentrierter Schwefelsäure vorgenommen, doch ließen sich die Ergebnisse dadurch nicht weiter verbessern.

Technik der Absättigungsversuche.

Die Versuche wurden so ausgeführt, daß zu je 2—3 ccm Antiserum 100 mg Koagulat gegeben wurde. Unter mehrmaligem Umschütteln wurde beides etwa eine Viertelstunde lang bei Zimmertemperatur belassen, danach abzentrifugiert. Der Dauer des Kontaktes ist anscheinend keine Bedeutung beizumessen; denn die Ergebnisse waren ganz die gleichen, als

ich das Alkoholkoagulat eine Stunde lang im Schüttelapparat auf das Antiserum einwirken ließ. Nach dem Abzentrifugieren zeigte der Inhalt des Zentrifugenröhrchens folgendes Aussehen (vgl. Abbildung):

a b c

Am Boden des Röhrchens war das Alkoholkoagulat, das in seinem Aussehen schwankte zwischen einem weiß-gelblichen bis bräunlichen Farbton je nach der Färbung des verwendeten Serums. Darüber war eine mehr oder minder starke Schicht eines weißlichen dichten Niederschlages und darüber das klare Antiserum. Bei dem weißlichen Niederschlag handelt es sich offenbar um das Produkt der Präzipitation zwischen dem zu entfernenden Präzipitin und dem in Form des Alkoholkoagulates hinzugefügten Antigen. Die Stärke des Niederschlages, die zwischen einer sehr dünnen Auflagerung und einer Schicht von mehreren mm Höhe schwankte, entsprach der Menge der entfernten Präzipitine. Hierfür spricht folgende Beobachtung. Bei dem Antientenserum E 110, das mit einem homologen Titer von 20 000 +++ auf Huhn ebenso stark, auf Taube zwar auch bis 20 000 aber etwas schwächer übergriff, wurde die Absättigung bei einer Portion (a) mit Tauben-, bei einer zweiten (b) mit Hühner-, und bei einer dritten (c) mit Entenalkoholkoagulat ausgeführt. Auf dem Taubenalkoholkoagulat fand sich nach dem Zentrifugieren die weißliche Ausfällung in einer Schicht von etwa 2—3 mm Höhe, auf dem Hühneralkoholkoagulat war die Schicht fast doppelt so hoch, und auf dem Entenalkohol-

koagulat hatte sie sogar stellenweise eine Höhe von 6—7 mm erreicht. Wie die Titerbestimmung nach der Absättigung zeigte, waren durch das Entenalkoholkoagulat nicht allein die homologen Präzipitine zum größten Teil entfernt worden, sondern auch in fast noch stärkerem Maße die Verwandtschaftspräzipitine. Durch Behandlung mit dem Tauben- und dem Hühneralkoholkoagulat waren jedoch die homologen Entenpräzipitine unverändert erhalten geblieben. Der Unterschied in der Menge des Niederschlages bei dem Tauben- und dem Hühneralkoholkoagulat findet außer in dem verschieden starken Uebergreifen des Antiserums seine Erklärung darin, daß durch das Hühneralkoholkoagulat auch die Taubenpräzipitine in gleichem Maße entfernt wurden, während das Taubenalkoholkoagulat im wesentlichen nur die Taubenpräzipitine entfernte. Wie aus dem Vorangegangenen bereits hervorgeht, wurde die Absättigung sowohl mit dem Alkoholkoagulat des homologen wie des heterologen Antigens ausgeführt. Die Absättigung wurde meist zweimal wiederholt. Die Einzelheiten über die zu den Untersuchungen verwendeten Antisera ergibt nachfolgende Tabelle 1.

Tabelle 1:

Zu den Versuchen verwendete Antisera.

Es bedeuten: +++ sehr starke Reaktion.
++ starke Reaktion.
+ deutlich sichtbare Reaktion.
(+) sehr schwache, aber doch noch deutlich sichtbare Reaktion.
± zweifelhafte Reaktion.
O keine Reaktion.

Bezeichnung des des Antiserums	Gewonnen durch ? Injektionen von	Homologer Titer	Heterologe Titer
	I. Antigengemische.		
Pf.-R.-Schw. 25	Pferde-Rinder-Schweineserum 4 Injektionen	Pferd 20000+++ Rind 20000++ Schwein 20000+++	— — —
Pf.-R.-Schw. 965	Pferde-Rinder-Schweineserum 4 Injektionen	Pferd 20000+++ Rind 20000± Schwein 20000++	— — —

Bezeichnung des des Antiserums	Gewonnen durch ? Injektionen von	Homologer Titer	Heterologe Titer
II. Einheitliche Antigene.			
R 918	Rinderserum 3 Injektionen	20000++	Hammel 1000±
Ha 920	Hammelserum 3 Injektionen	20000+++	Rind 20000+
Ha 921	Hammelserum 3 Injektionen	20000++	Rind 20000+
Pf 922	Pferdeserum 3 Injektionen	20000++	Esel 20000++
R 919	Rinderserum 3 Injektionen	20000+++	Hammel 20000+++ Pferd 1000±
E 110	Entenserum 3 Injektionen	20000+++	Taube 20000+ Huhn 20000+++
Hu 81	Hühnerserum 3 Injektionen	20000+++	Taube 10000± Ente 20000++
T 979	Taubenserum 5 Injektionen	20000++	Huhn 20000+++ Ente 20000+++
R 5	Rinderserum 8 Injektionen	20000+++	Hammel 20000+++ Pferd 20000± Schwein 20000+
Pf 7	Pferdeserum 8 Injektionen	20000+++	Esel 20000++ Rind 20000++ Hammel 20000± Schwein 20000+ Mensch 1000±
R 69	Rinderserum 4 Injektionen	20000+++	Hammel 20000+++ Pferd 20000+++ Esel 20000+++ Schwein 20000++ Mensch 20000+

Aus den beiden polyvalenten Antisera, die durch Vorbehandlung mit Serumgemisch gewonnen waren, gelang durch Absättigung mit jeder der Komponenten die fast restlose Entfernung des homologen Präzipitins, während die beiden herterologen jeweils fast oder ganz erhalten blieben. Das Nähere zeigen die Protokolle Tabelle 2 und 3.

Tabelle 2:

Antipferde-Rinder-Schweineserum 25.

Titer d. Antiserums	Rind	Pferd	Schwein
Vor d. Absättigung	20000++	20000+++	20000+++
Nach der Absättigung mit:			
Rind A K*) 1×	1000±	20000+++	20000+++
2×	100+	20000+++	20000+++
3×	100(+)	20000+++	20000+++
Pferd A K 1×	20000+	100±	20000+++
2×	20000+	100±	20000+++
3×	10000+	O	20000+++
Schwein A K 1×	20000+	20000+++	100+
2×	20000+	20000+++	100+
3×	20000+	20000+++	100±

*) A. K. bedeutet: Alkoholkoagulat.

Tabelle 3:

Antipferde-Rinder-Schweineserum 965.

Titer d. Antiserums	Rind	Pferd	Schwein
Vor d. Absättigung	20000±	20000+++	20000++
Nach d. Absättig. mit:			
Rind A K 1×	1000+	20000+++	20000++
2×	1000±	20000+++	20000++
3×	100+	20000++	20000+
Pferd A K 1×	10000±	100+	20000++
2×	10000±	100+	20000++
3×	10000±	100+	20000++
Schwein A K 1×	20000±	20000+++	1000±
2×	10000±	20000+++	100+
3×	10000±	20000++	100±

Bei der Betrachtung der echt übergreifenden Antisera stellten den einfachsten Fall diejenigen dar, welche außer dem homologen nur ein fremdes Serum präzipitieren. Hier handelt es sich meist um eng verwandte Tierarten, wie Rind und Hammel oder Pferd und Esel. Bei diesen zeigte es sich regelmäßig, daß die Absorption mit dem homologen Antigen auch das Verwandtschaftspräzipitin entfernt; dagegen führte die Absorption mit dem Verwandtschaftsantigen zwar eine deutliche, aber weit geringere Herabsetzung des homologen Titers herbei. Vgl. Tabellen 4—7.

Tabelle 4:

Antirinderserum 918.

Titer d. Antiserums	Rind	Hammel
Vor der Absättigung	20000++	1000±
Nach der Absättigung mit:		
Rind A K 1×	100+	100±
2×	100+	100±
Hammel A K 1×	20000+	100+
2×	10000±	100+

Tabelle 5:

Antihammelserum 920.

Titer d. Antiserums	Hammel	Rind
Vor d. Absättigung	20000+++	20000+
Nach der Absättigung mit:		
Hammel A K 1×	1000±	100±
2×	100±	O
Rind A K 1×	2000±	100±
2×	1000±	O

Tabelle 6:

Antihammelserum 921.

Titer d. Antiserums	Hammel	Rind
Vor d. Absättigung	20000++	20000+
Nach der Absättigung mit:		
Hammel A K 1×	1000±	100+
2×	100+	100+
3×	10+	100(+)
Rind A K 1×	20000+	100±
2×	20000+	100±
3×	20000+	100±

Tabelle 7:

Antipferdeserum 922.

Titer d. Antiserums	Pferd	Esel
Vor der Absättigung	20000++	20000++
Nach d. Absättig. mit:		
Pferd A K 1×	1000±	100±
2×	0	0
Esel A K 1×	1000±	100+
2×	1000±	100+

Bei den vier Antisera, die zwei heterologe Präzipitine aufwiesen, wurden ebenfalls durch das homologe Antigen alle Präzipitine sehr weitgehend entfernt; dagegen wurde durch Absorption mit den heterologen Antigenen das homologe Präzipitin kaum oder garnicht beeinflußt. Vgl. Tabellen 8—11.

Tabelle 8:

Antirinderserum 919.

Titer d. Antiserums	Rind	Hammel	Pferd
Vor d. Absättigung	20000+++	20000+++	1000±
Nach d. Absättig. mit:			
Rind A K 1×	100+	100±	1000±
2×	100+	10+	10±
3×	100+	10+	0
Hammel A K 1×	20000++	100+	1000±
2×	20000++	100+	100±
3×	20000++	100(+)	100±
Pferd A K 1×	20000+++	20000+++	10±
2×	20000+++	20000++	0
3×	20000+++	20000++	0

Tabelle 9:

Antientenserum 110.

Titer d. Antiserums	Ente	Taube	Huhn
Vor d. Absättigung	20000+++	20000+	20000+++
Nach der Absättigung mit:			
Enten A K 1×	1000+	10+	1000±
2×	1000±	10+	100±
3×	1000±	10+	100±
Tauben A K 1×	20000+++	100±	20000++
2×	20000+++	10+	20000++
3×	20000+++	10+	20000++
Huhn A K 1×	20000+++	100±	10+
2×	20000+++	10+	10+
3×	20000+++	10+	10+

Tabelle 10:

Antihühnerserum 81.

Titer d. Antiserums	Huhn	Taube	Ente
Vor d. Absättigung	20000+++	10000±	20000++
Nach der Absättigung mit:			
Huhn A K 1×	1000+	100+	100+
2×	1000+	100±	100+
3×	1000±	10+	100+
Tauben A K 1×	20000+++	100+	20000+
2×	20000+++	100±	20000+
3×	20000+++	10+	20000+
Enten A K 1×	20000++	1000±	1000±
2×	20000++	100±	100±
3×	20000++	10+	100±

Tabelle 11:

Antitaubenserum 979.

Titer d. Antiserums	Taube	Huhn	Ente
Vor d. Absättigung	20000++	20000+++	20000+++
Nach der Absättigung mit:			
Tauben A K 1×	100+	10+	10+
2×	10+	O	O
3×	10+	O	O
Huhn A K 1×	20000+	100+	1000+
2×	20000+	10+	1000±
3×	20000±	10+	100+
4×	20000±	O	10+
Enten A K 1×	20000+	1000+	100±
2×	20000±	10±	10±
3×	10000±	O	O

Fassen wir das Ergebnis dieser Versuchsreihen kurz zusammen, so zeigt sich folgendes (Tabelle 12):

Tabelle 12:

	Homologes Antigen	Heterologe Antigene
Anti-Rinderserum 919	entfernt alles	Hammel entfernt Hammel und Pferd Pferd entfernt Pferd, nicht Hammel
Anti-Entenserum 110	entfernt fast alles	Huhn entfernt Huhn und Taube Taube entfernt Taube, nicht Huhn
Anti-Hühnerserum 81	entfernt fast alles	Ente entfernt Ente und Taube Taube entfernt Taube, nicht Ente
Anti-Taubenserum 979	entfernt alles	Huhn entfernt Huhn und Ente Ente entfernt Huhn und Ente

Wie die vorstehende Tabelle zeigt, kann also die Behandlung mit einem heterologen Antigen entweder nur das entsprechende oder auch beide heterologe Präzipitine entfernen. Bestimmte Regeln hierfür lassen sich auf Grund des vorliegenden Materials nicht aufstellen. So z. B. kann eine Erklärung nicht gegeben werden, weshalb beim Anti-Rinderserum 919 das Hammelserumkoagulat die Präzipitine für Hammel und Pferd, dagegen das Pferdeserumkoagulat nur die Präzipitine für Pferd, aber nicht für Hammel entfernte. Ein Vergleich der mit den drei Vogelsera erhaltenen Resultate zeigt, daß nicht Verwandtschaftsverhältnisse hierbei im Spiel sind, sondern eher individuelle Unterschiede der benutzten Koagulate.

Aehnliche Beobachtungen wurden auch bei den auf drei und mehr heterologe Antigene übergreifenden Antisera erhoben, vgl. Tabellen 13—15.

Tabelle 13:

Antirinderserum 5.

Titer des Antiseerums	Rind	Hammel	Pferd	Schwein
Vor der Absättigung	20000+++	20000+++	20000±	20000+
Nach der Absättigung mit:				
Rind A K 1×	20000+	100++	100±	100±
2×	1000+	100+	10±	10±
3×	1000+	100+	O	10±
Hammel A K 1×	20000++	10000±	100±	1000(+)
2×	20000+	100+	10(+)	10+
3×	20000+	100+	10(+)	10+
Schwein A K 1×	20000+++	20000+++	20000±	100+
—2×	20000+++	20000+++	100+	100+
3×	20000+++	20000+	100(+)	100(+)

Tabelle 14:

Antipferdeserum 7.

Titer des Antiserums	Pferd	Esel	Rind	Hammel	Schwein	Mensch
Vor der Absättigung	20000+++	20000++	20000++	20000±	20000+	1000±
Nach der Absättigung mit:						
Pferd A K						
1×	1000±	20000+	20000±	1000±	1000+	100+
2×	1000±	20000±	100+	100±	1000±	100+
3×	100+	1000±	10+	10+	100+	100+
Esel A K						
1×	20000+	100++	20000±	100±	100+	100+
2×	100++	100++	100+	10±	100+	100±
3×	100++	100+	100+	10±	100+	100±
Rind A K						
1×	20000+++	20000++	1000±	1000±	1000±	1000±
2×	20000+++	20000++	1000±	10+	100+	100+
3×	20000+++	1000++	100(+)	10(+)	100+	100+
Schwein A K						
1×	20000+++	20000++	1000±	100±	1000±	100+
2×	20000+++	20000++	1000±	100±	100+	100±
3×	20000+++	20000++	1000±	100±	100+	100±

Tabelle 15:

Antirinderserum 69.

Titer des Antiserums	Rind	Hammel	Pferd	Esel	Schwein	Mensch
Vor der Absättigung	20000+++	20000+++	20000+++	20000+++	20000++	20000++
Nach der Absättigung mit: Rind A K						
1×	1000+	1000+	20000+++	20000+++	20000±	20000±
2×	1000+	100+	20000+++	20000+++	100±	100±
3×	1000±					
Pferd A K						
1×	20000+++	20000+++	1000+	1000±	20000±	20000±
2×	20000++	20000++	100+	100+	100+	100+
3×	20000++	20000+	100(+)	100+	100+	100+
Schwein A K						
1×	20000++	20000+	20000++		100±	20000+
2×	20000++	20000+	20000++		100±	20000±
3×	20000++	20000+	20000++		100±	20000±
Mensch A K						
1×	20000++	20000++	20000++		20000+	100+
2×	20000++	20000++	20000+		20000+	100+
3×	20000++	20000+	20000+		20000(+)	100(+)

2. Die Gewinnung präzipitierender Sera durch perkutane Immunisierung.

Der zweite Teil meiner Arbeit ist eine Nachprüfung der Sato'schen Methode, hochwertige Antisera durch perkutante Verreibung des Antigens zu erzielen. Ich habe aber hierbei nicht mit Hämoglobin gearbeitet, sondern mich auf die perkutante Verreibung von Serum als Antigen beschränkt. Drei Kaninchen wurden nach diesem Verfahren mit Menschenserum-, Schweineserum- und Hammelserumlanolin behandelt. Die Technik wurde genau nach den Angaben von Sato ausgeführt. Leider ging das mit Menschenserumlanolin eingeriebene Tier nach 6 Tagen an Pneumonie zu Grunde. Das Ergebnis entsprach auch sonst nicht den Erwartungen, die nach den Angaben des Verfassers gehegt werden mußten. Sato gibt an, daß er auf diese Weise mit Leichtigkeit für die forensische Praxis brauchbare Antisera mit einem Titer von 5 000 — 20 000 erzielt habe. Dies schließt die schon von Uhlenhuth gestellte Forderung in sich, daß die Reaktion unmittelbar, spätestens nach einigen Minuten bis zur Verdünnung 1 : 20 000 auftreten müsse. In meinen Versuchen war nach einer Viertelstunde überhaupt keine Reaktion sichtbar, auch nicht in den niedrigsten Serumverdünnungen. Erst nach einer reichlichen halben Stunde war die Präzipitation eingetreten. Der Titer ging zwar dann bis zu 10 000 bezw. 20 000, doch war der Ring nicht so stark, wie ich das bei Antisera, die durch Injektion des Antigens erzielt worden waren, zu sehen gewohnt war.

	1:10	1:100	1:1000	1:10000	1:20000	NaCl
Antihammelserum Ha 87 ¼ Std.	o	o	o	o	o	o
½ „	+	+	+	+	+	o
Antischweineserum Schw 92 ¼ Std	o	o	o	o	o	o
½ „	++	++	++	++	++	o

Gleichzeitig mit diesen Tieren bekamen noch drei andere Kaninchen reines Serum (ohne Lanolin) eingerieben, und zwar ebenfalls Menschen-, Hammel- oder Schweineserum. An sechs aufeinanderfolgenden Tagen wurden je 2 ccm reines

Serum auf die epilierte Haut eingerieben. Die Dauer der Einreibung betrug jedesmal etwa 10—15 Minuten. Die Blutentnahme erfolgte am 8. Tage nach der letzten Einreibung. Das Ergebnis mit dem Antihammel- und Antischweineserum war etwa das gleiche wie bei den vorerwähnten Tieren. Das Antimenschenserum gab jedoch auch nach Verlauf einer halben Stunde so gut wie keine Reaktion.

	1:10	1:100	1:1000	1:10000	1:20000	NaCl
Antihammelserum Ha 91 ¼ Std.	O	O	O	O	O	O
½ „	++	++	++	++	++	O
Antischweineserum Schw 90 ¼ Std.	O	O	O	O	O	O
½ „	+	+	+	+	+	O
Antimenschenserum M 89 ¼ Std.	O	O	O	O	O	O
½ „	(+)	(+)	O	O	O	O

Da das Ergebnis so unbefriedigend war, wurden sämtliche Tiere, sowohl die Serum-Lanolin-Kaninchen wie die Serum-(ohne Lanolin) -Kaninchen noch vier weitere Male eingerieben. Das Schweineserum-Lanolin-Kaninchen 92 ging allerdings interkurrent zu Grunde. Die Titerbestimmung fünf Tage nach dem letzten Einreiben hatte folgendes Ergebnis:

	1:10	1:100	1:1000	1:10000	1:20000	NaCl
Antihammelserum Ha87 (mit Lanolin) ¼ Std.	+	+	O	O	O	O
½ „	++	++	+	(+)	(+)	O
Antihammelserum Ha 91 ohne Lanolin ¼ Std.	+	+	+	±	±	O
½ „	++	++	++	++	++	O
Antischweineserum Schw 90 ¼ Std.	+	+	+	±	±	O
ohne Lanolin ½ „	++	++	++	+	+	O
Antimenschenserum M89 ¼ Stdt.	+	+	O	O	O	O
½ „	++	+	±	O	O	O

Etwas günstigere Ergebnisse wurden mit vier weiteren Tieren erzielt, von denen zwei mit Rinder-, zwei mit Pferdeserum ebenfalls ohne Lanolin in entsprechender Weise perku-

tan behandelt wurden. Es wurden jedoch nicht nur sechs Verreibungen gemacht, sondern Rinderserumkaninchen R 980 erhielt in der Zeit vom 15. 3. bis 31. 3. 10 Einreibungen von je 2 ccm Rinderserum, Pferdeserumkaninchen Pf 984 in der gleichen Zeit sogar 13 Einreibungen von je 2 ccm Pferdeserum. Die Prüfung der Sera mußte aus äußeren Gründen bereits am Tag nach der letzten Behandlung erfolgen. Rinderserumkaninchen R 982 und Pferdeserumkaninchen Pf 983 wurden in der Zeit vom 15. 3. bis 25. 3. neunmal mit Rinder- bezw. Pferdeserum behandelt. Da beide an Pneumonie erkrankt waren, wurde kurz vor ihrem Tode am 27. 3. bezw. 28. 3. eine Herzpunktion vorgenommen. Die Titerbestimmung zeigte ein etwas günstigeres Bild. Die Ringbildung trat zwar auch etwas zögernd ein, war aber schon nach einer ¼ Stunde vorhanden und erreichte in einem Teil der Fälle auch etwas stärkere Grade.

	1:10	1:100	1:1000	1:10000	1:20000	NaCl
Antirinderserum R 982	+++	+++	++	++	+	0
Antirinderserum R 980	+++	+++	++	++	++	0
Antipferdeserum Pf 983	+++	+++	+++	+++	++	0
Antipferdeserum Pf 984	+	+	+	+	+	0

Was die Spezifität dieser Antisera anlangt, so konnte bei keinem, außer den Verwandtschaftsreaktionen, ein Uebergreifen festgestellt werden.

3. Zusammenfassung.

1. Durch Antigen in Form eines Alkoholkoagulates war eine Absättigung der Präzipitine möglich. Sie gelang aber meist nicht vollständig. Gewöhnlich blieb bis zum Titer 100 ein sehr schwacher Ring sichtbar.

2. Sehr leicht gelang die Absättigung bei Antisera, die durch Injektion von Antigengemischen gewonnen wurden.

Das Alkoholkoagulat entfernte nur das homologe Präzipitin, während die übrigen fast ohne Beeinflussung erhalten blieben

3. Bei Antisera, die auf nicht oder entfernter verwandte Tierarten übergriffen, entfernten die heterologen Antigenkoagulate meist alle heterologen Präzipitine; die homologen Präzipitine blieben unberührt. Das Alkoholkoagulat des homologen Serums beseitigte bei zwei Antisera zugleich mit den homologen Präzipitinen auch die heterologen Präzipitine in gleich starkem Maße; nur in einem Falle blieb das Nebenpräzipitin, das ebenso stark war wie das homologe, durch das homologe Alkoholkoagulat ungeschwächt. Wiederholt zeigte es sich, daß durch das homologe Koagulat die heterologen Präzipitine fast oder restlos entfernt wurden, während die homologen noch stärker erhalten blieben. Möglicherweise war in diesen Fällen der homologe Titer vor der Absättigung wesentlich höher gewesen als 20 000, was aber bei der verwendeten Untersuchungstechnik nicht zum Ausdruck kommen konnte.

4. Das Verfahren, übergreifende Präzipitine durch Absorption des Antiserums mit den Alkoholkoagulaten der entsprechenden heterologen Antigene zu entfernen, ergibt praktisch brauchbare Resultate. Der homologe Titer wird nicht oder kaum herabgesetzt, während der heterologe Titer auf 100, manchmal sogar auf 10, in einigen Fällen auf 0 herabgedrückt wird. Hierdurch wird eine erhebliche Ersparnis an Tiermaterial und Arbeit bedingt.

5. Das von S a t o angegebene Verfahren der perkutanen Einreibung von Lanolinserumpasten lieferte keine brauchbaren Ergebnisse. Etwas bessere Resultate wurden bei Einreibung reinen Serums erhalten; aber selbst dann blieben die Titer trotz der zahlreichen Einreibungen weit hinter den Werten zurück, welche mit viel geringerer Zeit und Mühe und weit größerer Sicherheit durch parenterale Behandlung der Tiere erhalten werden.

Zum Schluß sei es mir gestattet, Herrn Professor P r a u s n i t z für die Ueberlassung des Themas und die gütige Unterstützung bei der Arbeit, sowie Fräulein Irmgard M e i s s n e r für ihre freundliche Hilfe meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

Beger, H., Zentralbl. f. Bakteriologie Abt. I. 1924. Bd. 91, S. 519.

Blumenthal, G., Deutsche Zeitschrift für die ges. gerichtl. Medizin. 1927. Bd. 10, S. 17.

Friedberger und Jarre, Zeitschrift für Immunitätsf. 1920. Bd. 30, S. 351.

Friedberger, E., und Lasnitzki, A., Klin. Wochenschrift 1922, S. 1607.

Friedberger, E., und Meissner, G., Zeitschrift für Immunitätsf. 1923. Bd. 36, S. 233.

Fujiwara, Deutsche Zeitschr. f. d. ges. gerichtl. Medizin. 1922. Bd. 1, S. 562.

Fürth, Archiv für Hygiene. 1923. Bd. 92, S. 158.

Gaehtgens, W., Zeitschr. f. Immunitätsf. 1928. Bd. 55, S. 258.

Kister und Weichardt, W., Zeitschrift f. Medizinalbeamte. 1902. Bd. 15, S. 729.

Kister und Wolff, Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten. 1902. Bd. 41, S. 213.

Kraus, R., Wiener klin. Wochenschr. 1897. S. 736.

Manteufel und Beger, H., Zeitschrift für Immunitätsf. 1922. Bd. 33, S. 348.

Manteufel und Tomioka, Y., Zentralblatt für Bakteriologie, Abt. I, Orig. 1924. Bd. 91, S. 317.

Manteufel, P., Arbeiten aus dem Reichsgesundheitsamt 1926. Bd. 57, S. 41.

Meissner, G., Zeitschr. f. Immunitätsf. 1923. Bd. 36, S. 272.

Meissner, G., Zentralbl. f. Bakteriol., Abt. I. 1926. Bd. 100, S. 258.

Mertens, Deutsche Mediz. Wochenschr. 1901, S. 161.

Myers, Zentralbl. f. Bakteriol. 1900. Bd. 28, S. 237.

Nuttall, Blood Immunity and Blood Relationship. Cambridge 1904.

Nishegorodzeff, K., Zeitschr. f. Immunitätsf. 1930. Bd. 66, S. 276.
Rosenberg, R., Arbeiten aus dem Reichsgesundheitsamt. 1927. Bd. 58, S. 141.
Sato, K., Jap. I. med. Sci. Trans. VII Soc. Med. 1. 1932. S. 175.
Schmidt, W. A., Zeitschr. f. Immunitätsf. 1912. Bd. 13, S. 166.
Scimone, V., und Torii, T., Zeitschr. f. Immunitätsf. 1923. Bd. 88, S. 264.
Stern, Deutsche med. Wochenschr. 1901. S. 135.
Strube, Deutsche med. Wochenschr. 1902. S. 424.
Tchistovitsch, Ann. de l'Institut Pasteur. 1899. Bd. 13, S. 406.
Tsukasaki, R., The Tohoku Journal of exper. Med. 1922. Bd. 3, S. 653.
Uhlenhuth, Deutsche med. Wochenschr. 1900. S. 734.
Uhlenhuth, Deutsche med. Wochenschr. 1901. S. 82, 260, 499.
Uhlenhuth und Weidanz, Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweiß-Differenzierungsverfahrens mit besonderer Berücksichtigung der forensischen Blut- und Fleischuntersuchung sowie der Gewinnung präzipitierender Sera. Jena 1909.
Wassermann und Schütze, Berliner klin. Wochenschr. 1901. S. 187.
Weichardt, W., Hygienische Rundschau. 1903. Bd. 13, S. 756.
Yu, I., Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. I Orig. 1923. Bd. 90, S. 381.

Lebenslauf.

Ich, Dorothea Hallmann, wurde am 25. Januar 1910 als Tochter des Oberpostschaffners Johann Hallmann und seiner Ehefrau Agnes geb. Jung in Haynau i. Schl. geboren. Von 1916—1919 besuchte ich die kath. Volksschule, von 1919—1923 die Mädchen-Mittelschule in Haynau. Dann trat ich in die Untertertia des dortigen Realgymnasiums ein. Nach bestandener Reifeprüfung Ostern 1929 bezog ich die Universität Breslau, wo ich 8 Semester Zahnheilkunde studierte. Nach dem 7. Semester legte ich in Breslau das zahnärztliche Staatsexamen ab und erhielt im Januar 1933 die Approbation als Zahnarzt.